マイクロ・ナノ微粒子に対する生体反応の解析 およびそのバイオ応用

03501

助 成 対 象 者 田 村 一 央 北海道大学大学 院歯学研究科
口腔健康科学講座 物性歯科理工学分野 博 3 年
研究の直接の指導者 亘 理 文 夫 北海道大学大学 院歯学研究科
口腔健康科学講座 物性歯科理工学分野 教 授

成果の概要

ナノテクノロジーの研究開発については、ナノ・マイクロ微粒子が健康に及ぼす影響も検討する必要がある。我々は動物体内への粒子を埋入し、in vivoでの微粒子の経時的な生体毒性評価を進めてきた。さらにヒト培養細胞を用いて微粒子の細胞への影響を評価する方法を確立した。本研究では粒子サイズが組織為害作用に与える影響を病理学的・生化学的に検討することを目的とした。

in vivoのラット皮下組織への埋入実験の結果から微粒子の組織への影響にはサイズ依存性があることが示された。10 μm 粒子は貪食されず組織で分散しないが、3 μm 粒子は分散し貪食像を認めた。炎症は3 μm 粒子に対して強く、in vitroの細胞実験を支持する結果が得られた。ナノレベルのCNT・二酸化チタンを皮下組織に埋入した場合もマイクロ粒子と同様に、周囲組織には血管拡張・細胞浸潤が観察され、炎症を惹起したが、3 μm –500nmの粒子に比べ炎症の程度は低かった。CNTの一部は組織内で凝集し貪食像も認めたが、分散したCNTは組織内で確認できなかった。ナノ粒子も生体内で炎症を引き起こすことが明らかになった。

in vitroで3 μm –500nmのチタン微粒子に対し細胞は著名なサイトカイン・活性酸素の産生を認めた。一方、10 μm 以上のチタン微粒子に対しては細胞の反応は低下した。in vitroでもサイズ依存性を示しin vivo

の実験結果と良い相関を示した。生体親和性の高いチタンも3 μm 以下の粒子になると細胞に取り込まれ、炎症や活性酸素の放出の原因となりうることが示唆された。細胞に取り込まれる3 μm –500nmでは最大の反応を示した。生体内不活性の二酸化チタンもこの範囲ではチタン粒子と同様の傾向を示した。しかし、ナノ粒子に対しては活性酸素・サイトカイン産生量は3 μm –500nm粒子に比べ有意に低く、細胞生存率は高かった。ナノレベルのCNTや二酸化チタン粒子には細胞刺激性はあるが細胞障害性は低いことが示された。

ほとんどイオン溶出ししないバイオマテリアルも微粒子となると、マクロの材料とは異なり生体為害性を示す。数マイクロ以下の微粒子になると材料非特異的な物理的サイズ効果が重要になる。in vitroで細胞は50nmまでの微粒子に反応して活性酸素やサイトカインを放出し、in vivoでもナノレベルの粒子は周囲組織に炎症を起こした。また、マイクロ微粒子は組織内で拡散し残留することで炎症が持続する可能性も示唆された。

本研究で明らかにされた微粒子の物理的なサイズ効果による生体為害作用は、微粒子の体内分布・動態、あるいは炎症や免疫システムへの影響といったナノトキシコロジーの最も基本的な現象であり、ナノテクノロジーが生体へ及ぼす影響を検討する上で必須の知見と考えられる。

Materials TiO₂・PLA微粒子

Ti マイクロ粒子による炎症

光学顕微鏡像

Results 細胞生存率

活性酸素産生量

Results TNE-α

Results 細胞増殖率

1. 論文・著書

学位論文関係

First author

- 1) Kazuchika TAMURA, Noriyuki TAKASHI, Ryuichiro Kumazawa, Yasunori TOTSUKA, Fumio WATARI, Effects of Particle Size on Cell Function and Morphology in Ti and Ni, Materials Transactions JIM, 43(12), 3052-3057
- 2) Kazuchika TAMURA, Noriyuki TAKASHI, Tsukasa AKASAKA, Rosca IOSIF Daniel, Motohiro UO, Yasunori TOTSUKA, Fumio WATARI, Effects of Micro/Nano Particle Size on Cell Function and Morphology, Bioceramics Vol.16, 909-913, (2004)
- 3) Kazuchika TAMURA, Noriyuki TAKASHI, Tsukasa AKASAKA, Rosca IOSIF Daniel, Motohiro UO, Yasunori TOTSUKA, Fumio WATARI, Pathobiological Response of Carbon nano-tubes and Micro/nano particles, 傾斜機能材料論文集FGM 2004, 22-27, (2004)
- 4) Kazuchika TAMURA, Noriyuki TAKASHI, Yasunori TOTSUKA, Fumio WATARI, Effects of Ti, Ni and Fe particles on Cell Function and particle size dependent cytotoxicity, J Biomedicine, under submission

Other

- 5) 亙理文夫, 田村一央, 高師則行, 宇尾基弘, 赤坂司, 戸塚靖則, 古月文志, 佐藤義倫, 田路和幸, 微粒子と生体反応, ナノ学会会報 2(1), 33-37, 2003
- 6) Iosif ROSCA, Fumio WATARI, Motohiro UO, Tsukasa AKASAKA, Kazuchika TAMURA, Mechanism of biodegradable polymer microparticle formation by emulsification solvent evaporation method, 傾斜機能材料論文集FGM 2004, 87-92
- 7) Fumio WATARI, Kazuchika TAMURA, Noriyuki TAKASHI, Takao KOHGO, Motohiro UO, Yoshinobu NODASAKA, Tadahumi DOMON, Yasunori TOTSUKA, Size Dependence of Cytotoxicity in Fine Particles of Titanium, Nickel and Other, Archives of BioCeramics Reseach 4(1) 78-84

2. 学会発表

学位論文関係

- 1) 田村一央, 高師則行, 宇尾基弘, 赤坂司, ロスカ・イオシフ, 田路和幸, 戸塚靖則, 亙理文夫, Cytokines emission of macrophages by carbon nano particle, 第25回フラーレンナノチューブシンポジウム, 平成16年1月,
- 2) Kazuchika TAMURA, Noriyuki TAKASHI, Motohiro Uo, Fumio WATARI, Yasunori TOTSUKA, Size-Dependent Effects of micro/nano Dental Particles, The 82st general Session of the International Association for Dental Research, Honolulu Mar. 2004
- 3) 田村一央, 高師則行, 宇尾基弘, 赤坂司, ロスカ・イオシフ, 田路和幸, 戸塚靖則, 亙理文夫, ナノ・マイクロ微粒子の生体への影響 -歯科診療で発生する微粒子の細胞への影響-, 第43回日本歯科理工学会, 平成16年4月, 歯科材料・器械24(2)115(2004)
- 4) Kazuchika TAMURA, Noriyuki TAKASHI, Motohiro Uo, Fumio WATARI, Yasunori TOTSUKA, Biologic effects induced by micro/nano particles in vivo and in vitro study, The 7th International Biomaterial, Sydney May. 2004
- 5) 田村一央, 高師則行, 宇尾基弘, 赤坂司, ロスカ・イオシフ, 田路和幸, 戸塚靖則, 亙理文夫, ナノ・マイクロ微粒子に対するin vitroおよびin vivoでの細胞・組織反応, 第26回フラーレンナノチューブシンポジウム, 平成16年7月,
- 6) 田村一央, 戸塚靖則, 亙理文夫, Biologic effects induced by micro/nano particles in vivo and in vitro study, 第46回歯科基礎医学会, 平成15年9月, 歯科基礎医学会雑誌 46(4)77(2004)
- 7) 田村一央, 生体反応に及ぼす微粒子のナノトキシコロジー効果, 平成16年度北海道歯学会, 平成16年11月
- 8) 田村一央, 熊沢龍一郎, 高師則行, 宇尾基弘, 赤坂司, ロスカ・イオシフ, 田路和幸, 戸塚靖則, 亙理文夫, ナノ・マイクロ微粒子バイオマテリアルの組織障害の機序, 第26回バイオマテリアル, 平成16年11月, 第26回バイオマテリアル学会・抄録集26(4)202(2004)